



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift  
10 DE 198 00 537 A 1

21 Aktenzeichen: 198 00 537.7  
22 Anmeldetag: 9. 1. 98  
43 Offenlegungstag: 8. 10. 98

51 Int. Cl.<sup>6</sup>:  
C 07 D 271/12  
G 01 N 31/00  
G 01 N 30/00  
G 01 N 27/416  
G 01 N 27/62  
G 01 N 21/17  
G 01 N 21/33  
G 01 N 21/64

DE 198 00 537 A 1

Mit Einverständnis des Anmelders offengelegte Anmeldung gemäß § 31 Abs. 2 Ziffer 1 PatG

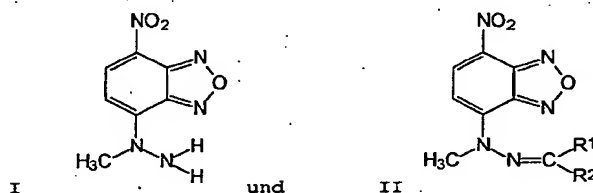
71 Anmelder:  
Büldt, Andrea, 26871 Aschendorf, DE; Karst, Uwe,  
Dr., 48145 Münster, DE

72 Erfinder:  
gleich Anmelder

56 Entgegenhaltungen:  
DE 1 96 11 657 A1  
JP-Kokai 3-258772 Anal. Chem. 69 (1997)  
3617-3622;

54 Neue Benzooxadiazole

57 Neue Benzooxadiazole



mit R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> = H, Alkyl, Aryl  
Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der allgemeinen Formeln I und II. Verbindung I kann erfindungsgemäß als Reagenz zur Bestimmung von Aldehyden, Ketonen, Stickstoffdioxid oder Nitrit eingesetzt werden, während die Verbindungen II als Kalibrationsstandards bei der Bestimmung von Aldehyden und Ketonen Verwendung finden können.

DE 198 00 537 A 1

Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formeln I und II.

Aldehyde und Ketone stellen eine der bedeutendsten Substanzgruppen der organischen Chemie dar. Sie werden in großem Maßstab produziert, als Lösungsmittel eingesetzt und für eine Vielzahl von Produkten, beispielsweise Polymeren und Feinchemikalien, weiterverarbeitet. Darüberhinaus werden Aldehyde häufig als Desinfektionsmittel in der Lebensmittelindustrie und der Medizin verwendet. In der Umwelt treten Aldehyde als Produkte der unvollständigen Verbrennung fossiler Brennstoffe oder der photochemischen Oxidation von Kohlenwasserstoffen auf. Aus dem breiten Vorkommen der Aldehyde und ihren intensiv diskutierten toxikologischen Eigenschaften ergibt sich ein hoher Bedarf für die Bestimmung dieser Verbindungen in verschiedenen Matrices und Konzentrationen.

Hydrazinreagenzien sind für die Identifizierung und Quantifizierung von Aldehyden besonders bewährt. Hierbei werden Reagenz und Aldehyde im sauren Medium zu den entsprechenden Hydrazonen umgesetzt, zumeist flüssigchromatographisch, in manchen Fällen gaschromatographisch getrennt und mittels spektroskopischer, elektrochemischer oder massenspektrometrischer Verfahren detektiert (vgl. neben einer Vielzahl von Literaturstellen: K. Kuwata, M. Uebori, H. Yamasaki, *Journal of Chromatographic Science* 17 (1979) 264–268; R.H. Beasley, C.E. Hoffmann, M.L. Rueppel, J.W. Worley, *Analytical Chemistry* 52 (1980) 1110–1114; I. Ogawa, J.S. Fritz, *Journal of Chromatography* 329 (1985) 81–89; J.-O. Levin, K. Andersson, R. Lindahl, C.-A. Nilsson, *Analytical Chemistry* 57 (1985) 1032–1035; N. Binding, S. Thiewens, U. Witting, *Staub – Reinhaltung der Luft* 46 (1986) 444–446; W. Pöter, U. Karst, *Analytical Chemistry* 68 (1996) 3354–3358; D.R. Rodier, L. Nondek, J.W. Birks, *Environmental Science and Technology* 27 (1993) 2814–2820; T. Aoyama, T. Yashiro, *Journal of Chromatography* 265 (1983) 45–55; R.J. Soukup, R.J. Scarpellino, E. Danieleczik, *Analytical Chemistry* 36 (1964) 2255–2256; D. Grosjean, *Analytical Chemistry* 55 (1983) 2436–2439). Als Standardverfahren für die Aldehydbestimmung wird in Deutschland und weltweit die 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) -Methode eingesetzt. Nachteile der DNPH-Methode sind erhebliche Querenmpfindlichkeiten gegenüber Stickstoffdioxid (U. Karst, N. Binding, K. Cammann, U. Witting, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 345 (1993) 48–52) und Ozon (R.R. Arnts, S.B. Tejada, *Environmental Science and Technology* 23 (1989) 1428–1430; D.F. Smith, T.E. Kleindienst, E.E. Hudgens, *Journal of Chromatography* 483 (1989) 431–436). In beiden Fällen entstehen Produkte, die mit den Hydrazonen des Formaldehyds und anderer Aldehyde coeluiieren können. Während die Reaktionsprodukte aus DNPH und Ozon weiterhin unbekannt sind, wurde das Reaktionsprodukt aus Stickstoffdioxid und DNPH als 2,4-Dinitrophenylazid identifiziert und kann sogar zur Bestimmung von Stickstoffdioxid herangezogen werden (K. Cammann, A. Grömping, U. Karst, DE 41 06 875 (1991); A.H.J. Grömping, U. Karst, K. Cammann, *Journal of Chromatography A* 653 (1993) 341–347).

In den letzten Jahren sind mehrfach hydrazino-funktionalisierte Benzoxadiazole als Aldehydreagenzien beschrieben worden (zum Beispiel G. Gübitz, R. Wintersteiger, R.W. Frei, *Journal of Liquid Chromatography* 7 (1984) 839–854; K. Imai, S. Uzo, S. Kanda, W.R.G. Baeyens, *Analitica Chimica Acta* 290 (1994) 3–20; S. Uzo, S. Kanda, K. Imai, K. Nakashima, S. Akiyama, *Analyst* 115 (1990) 1477–1482).

Für diese Verbindungen ist jedoch noch keine quantitative Bestimmung von Formaldehyd oder Acetaldehyd literaturbekannt.

Ein N-alkyliertes Hydrazinreagenz wurde in Form von N-Methyl-2,4-dinitrophenylhydrazin (MDNPH) ebenfalls kürzlich beschrieben (A. Büldt, U. Karst, DE 196 11 657.0 (1996); A. Büldt, U. Karst, *Analytical Chemistry* 69 (1997) 3617–3622). Die Reaktion von MDNPH mit Stickstoffdioxid und Ozon führt zur Entstehung von N-Methyl-2,4-dinitroanilin (MDNA). Nachteilig wirkt sich jedoch die im Vergleich zum DNPH deutlich reduzierte Reaktionsgeschwindigkeit des MDNPH mit Aldehyden und Ketonen aus.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein neues Verfahren zur simultanen Bestimmung einer Vielzahl von Aldehyden und Ketonen zu entwickeln, das sich durch möglichst geringe Interferenzen durch gefärbte Matrixbestandteile, eine niedrige Nachweisgrenze bei UV/vis-Detektion und möglichst geringe Störeinflüsse durch Stickstoffoxide bei der UV/visspektroskopischen Bestimmung der Analyten nach flüssigchromatographischer Trennung auszeichnet.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß N-Methyl-4-hydrazino-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol (Verbindung mit der Formel I, auch als N-Methyl-4-hydrazino-7-nitrobenzofurazan bezeichnet oder als MNBDH abgekürzt) sich rasch mit Aldehyden und Ketonen umsetzt und dabei Produkte der allgemeinen Formel II entstehen, die Absorptionsmaxima zwischen 474 nm und 514 nm aufweisen. Damit ist eine Bestimmung der Aldehyde und Ketone auch in gefärbten Lösungen möglich. Die Verbindungen I und II sind bisher in der wissenschaftlichen Literatur unbekannt. Zusätzlich reagiert I mit Stickstoffdioxid, aber auch mit Nitrit im sauren Medium rasch unter Entstehung von N-Methyl-4-amino-7-nitrobenzofurazan (N-Methyl-4-amino-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol, MNBDA). Diese Reaktion kann zur Quantifizierung von Stickstoffdioxid oder Nitrit eingesetzt werden. Als Besonderheit, speziell im Unterschied zu MDNPH, ist zu bemerken, daß bei der Reaktion von MNBDH mit Stickstoffdioxid ein Produkt entsteht, das fluoreszenzspektroskopisch in sehr niedrigen Konzentrationen nachgewiesen werden kann.

Das erfindungsgemäße Reagenz I wird, zur Beschleunigung der Reaktion auch in Anwesenheit von Säure als Katalysator mit den Analyten umgesetzt. Hierbei entstehen die Hydrazone mit der allgemeinen Formel II. Zur Gasprobenahme können sowohl Lösungen des Reagenzes in geeigneten Lösungsmitteln als auch mit Reagenz beschichtete feste Sammelphasen (z. B. Probenahmeröhrchen und -kartuschen, Passivsammlersysteme oder Diffusionsrohre) eingesetzt werden. Die Probenahme erfolgt bei flüssigen Proben durch Umsetzen einer Reagenzlösung mit der Probenlösung, bei gasförmigen Proben dadurch, daß die mit Reagenz beschichtete Sammelphase der Gasprobe ausgesetzt wird oder durch Reaktion der Analyten in der Gasprobe mit einer Reagenzlösung. Bei der aktiven Gasprobenahme wird hierzu eine geeignete Pumpe verwendet. Nach vollendeter Probenahme werden die festen Sammelphasen mit einem geeigneten organischen Lösungsmittel, z. B. Acetonitril eluiert. Die das Reagenz und die entstandenen Derivate enthaltende Lösung kann anschließend nach Bedarf weiterbehandelt werden, zum Beispiel durch Festphasenextraktion zur Anreicherung oder durch Filtration. Die Auftrennung der Einzelsubstanzen erfolgt durch Flüssigchromatographie, bevorzugt durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie auf Umkehrphasen und unter Verwendung mobiler Phasen hoher Polarität. Die De-

tektion erfolgt UV/visspektroskopisch (für die Hydrazone II) und wahlweise UV/visspektroskopisch oder fluoreszenzspektroskopisch (für MNBDA) unter Nutzung der Absorptionsmaxima bzw. Anregungs- und Emissionsmaxima. Die Produkte II zeigen im Gegensatz zu MNBDA nahezu keine Fluoreszenz. Für die Hydrazone II und für MNBDA kann alternativ auch eine amperometrische Detektion erfolgen. Die quantitative Auswertung erfolgt wahlweise über die Peakhöhen oder die Peakflächen. Das Verfahren kann unter anderem für folgende Aldehyde und Ketone eingesetzt werden: Formaldehyd, Acetaldehyd, Propionaldehyd, höhere aliphatische Aldehyde mit Kettenlängen von vier bis zwölf C-Atomen inclusive der geradkettigen Verbindungen und ihrer Stellungsisomere, Acrolein, Crotonaldehyd, Methacrolein und höhere ungesättigte Aldehyde mit Kettenlängen von fünf bis zwölf C-Atomen, Benzaldehyd, die Isoniere des Tölylaldehyds, bifunktionelle Aldehyde der Kettenlängen zwischen zwei und fünf C-Atomen, Aceton, 2-Butanon, geradkettige und verzweigte höhere Ketone mit Kettenlängen zwischen fünf und zwölf C-Atomen, Acetophenon, Benzophenon, 1-Buten-3-on, 1-Butin-3-on, Cyclopropylcarboxaldehyd, Cyclobutanon, Cyclopentanon, Cyclohexanon, Furfural, etc.

Im folgenden soll der Einsatz des Reagenzes anhand von Beispielen erläutert werden:

#### Beispiel 1

Bestimmung von Formaldehyd, Acetaldehyd, Aceton, Acrolein, Octanal, Glutardialdehyd und Benzaldehyd in der Raumluft eines Chemikalienlagers

Das Reagenz MNBDH (Formel I) wird wie folgt dargestellt: 1 g (0,005 mol) 4-Chloro-7-nitrobenzofurazan werden in 80 mL Chloroform gelöst und tropfenweise mit einer Lösung von 2,24 mL (0,04 mol) Methylhydrazin in 100 mL Methanol versetzt. Anschließend wird 20 Minuten lang unter Rückfluß erhitzt, die Reaktionslösung abgekühlt und der entstandene rote Niederschlag abfiltriert, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute beträgt 0,41 g (39%).

Die Charakterisierung von I erfolgte durch NMR-, IR- (Legende: s = stark, m = mittel, w = schwach) und UV-Spektroskopie, Massenspektrometrie und Dünnschichtchromatographie (Normalphasen-DC-Alufolien (Firma Merck), Laufmittel: Acetonitril : Toluol = 3 : 7):

- a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 3,89 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,70 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,63 (d, 1H, H<sub>C5</sub>, J = 9,4 Hz), 8,46 (d, 1H, H<sub>C6</sub>, J = 8,9 Hz)
- b) MS: 209 (M<sup>+</sup>, 27%), 194 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>, 17%), 164 (194-NO, 11%), 132 (27%), 118 (13%), 91 (13%), 28 (100%)
- c) IR: 3334 cm<sup>-1</sup> (m): N-H-Valenzschwingung 1639 cm<sup>-1</sup> (m) 1555 cm<sup>-1</sup> (m): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung 1459 cm<sup>-1</sup> (m), 1426 cm<sup>-1</sup> (m): C-H-Deformationsschwingungen 1322 cm<sup>-1</sup> (s): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten 1295 cm<sup>-1</sup> (s) 1279 cm<sup>-1</sup> (s)
- d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 486 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 21600 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>
- e) DC: R<sub>F</sub>-Wert: 0,46.

Ein Probenahmeröhrchen für die Gasphasenanalytik wird wie folgt hergestellt: 2 g I werden in 50 mL Acetonitril suspendiert und zu einem Gemisch aus 10 g gereinigter Trägersubstanz "Chromosorb P" (einem Kieselgelmaterial) und 20 mL halbkonzentrierter Schwefelsäure gegeben. Die Mischung wird durch Schütteln gut homogenisiert. Anschließend wird am Rotationsverdampfer eingengt, jedoch nicht zur vollständigen Trockene. Von der fast getrockneten Masse werden eine Sammel- und Kontrollschicht von 300 mg und eine Kontrollschicht von 100 mg in ein Glasröhrchen mit 5 mm Innendurchmesser gefüllt. Das Glasröhrchen wird mit einem Kunststoffstopfen gasdicht verschlossen und bis zur Probenahme im Kühlschrank gelagert. Zur Probenahme wird unter Zuhilfenahme einer Probenahmepumpe 15 min lang durch das so präparierte Glasröhrchen ein Luftstrom von 0,5 L/min aus dem Chemikalienlager gesaugt. Hierbei findet die Umsetzung von I zu den Hydrazonen II statt. Anschließend wird das exponierte Probenahmeröhrchen von der Pumpe getrennt. Sammel- und Kontrollschicht werden jeweils in ein Präparategläschen überführt und mit 5 mL Acetonitril unter wiederholtem Schütteln für drei Stunden eluiert. Von der Desorptionslösung werden 10 µL in eine HPLC-Anlage injiziert. Als Trennsystem dient eine LiChroSpher RP-18-Säule (Firma Merck) mit einem binären Gradienten aus Acetonitril und Wasser. Die Hydrazone der Analyten lassen sich unter diesen Bedingungen leicht voneinander abtrennen. Die Detektion erfolgt UV/vis-spektroskopisch bei der Wellenlänge von 490 nm, die für die unterschiedlichen Absorptionsmaxima der Hydrazone II einen geeigneten Kompromiß darstellt. Zur Kalibration der Einzelsubstanzen werden die Hydrazone nach der folgenden Vorschrift synthetisiert: 100 mg ( $4,8 \cdot 10^{-4}$  mol) MNBDH werden in 0,7 mL Wasser, 0,5 mL konzentrierter Schwefelsäure und 2,5 mL Ethanol gelöst.

Anschließend wird ein Überschuß von 50% ( $7,2 \cdot 10^{-4}$  mol) der entsprechenden Carbonylverbindung zugegeben. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt und mit einer 5%igen Natriumhydrogencarbonatlösung entsäuert, bis sich kein Schaum mehr bildet. Zum Schluß wird mit Wasser gewaschen und getrocknet.

Die Charakterisierung der Hydrazone II erfolgte durch NMR-, IR- (Legende: s = stark, m = mittel, w = schwach) und UV-Spektroskopie, Massenspektrometrie und Dünnschichtchromatographie (Normalphasen-DC-Alufolien (Firma Merck), Laufmittel: Acetonitril : Toluol = 3 : 7):

Formaldehyd-MNBDHydrazon (II mit R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = H):

- a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 4,03 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 6,86 (d) und 7,04 (d) 2H, N=CH<sub>2</sub>, J = 9,7 und 9,4 Hz, 7,40 (d, 1H, H<sub>C5</sub>, J = 8,9 Hz), 8,53 (d, 1H, H<sub>C6</sub>, J = 8,8 Hz)
- b) MS: 221 (M<sup>+</sup>, 35%), 145 (22%), 117 (43%), 28 (100%)
- c) IR: 3023 cm<sup>-1</sup> (w): C-H-Valenzschwingung des Aromaten 2969 cm<sup>-1</sup> (w): C-H-Valenzschwingung

1616  $\text{cm}^{-1}$  (m), 1496  $\text{cm}^{-1}$  (s): C=C-Valenzschwingung des Aromaten  
 1541  $\text{cm}^{-1}$  (s): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung  
 1320  $\text{cm}^{-1}$  (s): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten  
 1186  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 1079  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 1001  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 474 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 24670  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$   
 e)  $R_F$ -Wert: 0,64.

10 Acetaldehyd-MNBDhydrazon (II mit  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ ):

a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 2,24 (d, 3H,  $\text{CH-CH}_3$   $J = 5,3$  Hz), 4,06 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 7,36 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_5}$ ,  $J = 9,0$  Hz), 7,53 (q, 1H, N= $\text{CH}$ ,  $J = 5,3$  Hz), 8,50 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_6}$ ,  $J = 9,2$  Hz)  
 b) MS: 235 ( $\text{M}^+$ , 40%), 220 ( $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ , 43%), 190 (220-NO, 19%), 144 (38%), 117 (34%), 28 (100%)  
 c) IR: 3102  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Valenzschwingung des Aromaten  
 2942  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Valenzschwingung  
 1611  $\text{cm}^{-1}$  (m), 1498  $\text{cm}^{-1}$  (m): C=C-Valenzschwingung des Aromaten  
 1544  $\text{cm}^{-1}$  (s): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung  
 1422  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Deformationsschwingung  
 1338  $\text{cm}^{-1}$  (s): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten  
 1311  $\text{cm}^{-1}$  (s)  
 1076  $\text{cm}^{-1}$  (w)  
 997  $\text{cm}^{-1}$  (w)  
 d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 488 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 28960  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$   
 e)  $R_F$ -Wert: 0,64.

Aceton-MNBDhydrazon (II mit  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ ):

a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 2,03 (s) und 2,31 (s) 6H, C-( $\text{CH}_3$ )<sub>2</sub>, 3,82 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 6,13 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_5}$ ,  $J = 9$  Hz), 8,41 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_6}$ ,  $J = 9$  Hz)  
 b) MS: 249 ( $\text{M}^+$ , 37%), 234 ( $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ , 27%), 204 (234-NO, 13%), 158 (38%), 117 (34%), 103 (19%), 56 (100%)  
 c) IR: 1603  $\text{cm}^{-1}$  (m): C=C-Valenzschwingung des Aromaten  
 1564  $\text{cm}^{-1}$  (m): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung  
 1475  $\text{cm}^{-1}$  (m), 1437  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Deformationsschwingung  
 1317  $\text{cm}^{-1}$  (s): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten  
 1282  $\text{cm}^{-1}$  (s)  
 1104  $\text{cm}^{-1}$  (w)  
 1000  $\text{cm}^{-1}$  (w)  
 d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 500 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 24600  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$   
 e)  $R_F$ -Wert: 0,51.

Acrolein-MNBDhydrazon (II mit  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{CH=CH}_2$ ):

a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 4,12 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 5,84 (d, 2H,  $\text{CH=CH}_2$ ),  $J = 5,0$  Hz), 6,71 (q, 1H,  $\text{CH=CH}_2$ ,  $J = 8,9$  Hz), 7,42 (d, 1H,  $J = 9,0$  Hz), 7,77 (d, 1H,  $J = 8,9$  Hz), 8,51 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_6}$ ,  $J = 9,1$  Hz)  
 b) MS: 247 ( $\text{M}^+$ , 100%), 220 ( $\text{M}^+ - \text{CH=CH}_2$ , 12%), 171 (43%), 144 (27%), 117 (61%), 103 (43%)  
 c) IR: 2921  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Valenzschwingung  
 1613  $\text{cm}^{-1}$  (w), 1493  $\text{cm}^{-1}$  (m): C=C-Valenzschwingung des Aromaten  
 1535  $\text{cm}^{-1}$  (s): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung  
 1444  $\text{cm}^{-1}$  (w), 1423  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Deformationsschwingung  
 1366  $\text{cm}^{-1}$  (w): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten  
 1293  $\text{cm}^{-1}$  (s)  
 1076  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 999  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 499 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 28750  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$   
 e)  $R_F$ -Wert: 0,66.

Octanal-MNBDhydrazon (II mit  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = n\text{-C}_7\text{H}_{15}$ ):

a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 0,90 (t, 3H,  $-\text{C}_6\text{H}_{12}-\text{CH}_3$ ,  $J = 5,3$  Hz), 1,31–1,66 (m, 10H  $-\text{C}_5\text{H}_{10}-\text{CH}_3$ ), 2,53 (q, 2H, N= $\text{CH-CH}_2-$ ,  $J = 5,3$  Hz), 4,06 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 7,34 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_5}$ ,  $J = 9,0$  Hz), 7,50 (t, 1H, N= $\text{CH}$ ,  $J = 5,1$  Hz), 8,50 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_6}$ ,  $J = 9,1$  Hz)  
 b) MS: 319 ( $\text{M}^+$ , 25%), 220 ( $\text{M}^+ - \text{C}_7\text{H}_{15}$ , 100%), 190 (220-NO, 51%), 144 (57%), 117 (49%)  
 c) IR: 2928  $\text{cm}^{-1}$  (m), 2856  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Valenzschwingung 1609  $\text{cm}^{-1}$  (m), 1499  $\text{cm}^{-1}$  (m): C=C-Valenzschwingung des Aromaten 1543  $\text{cm}^{-1}$  (s): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung 1420  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Deformationsschwingung 1361  $\text{cm}^{-1}$  (w): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten 1308  $\text{cm}^{-1}$  (s) 1072  $\text{cm}^{-1}$  (m) 998  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 494 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 27620  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$

c)  $R_F$ -Wert: 0,70

Glutardialdehyd-MNBDhydrazon:

- a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 2,08 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 2,68 (q, 4H,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ,  $J = 7,5$  Hz), 4,14 (s, 6H,  $2 \times \text{N-CH}_3$ ), 7,56 (t, 2H,  $2 \times \text{N=CH}$ ,  $J = 5,9$  Hz) 5  
 b) MS: 194 (60%), 164 (194-NO, 25%), 118 (23%), 91 (23%), 79 (100%)  
 c) IR: 3070  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Valenzschwingung des Aromaten  
 2844  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Valenzschwingung  
 1612  $\text{cm}^{-1}$  (m), 1497  $\text{cm}^{-1}$  (m): C=C-Valenzschwingung des Aromaten 10  
 1542  $\text{cm}^{-1}$  (s): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung  
 1420  $\text{cm}^{-1}$  (m): C-H-Deformationsschwingung  
 1363  $\text{cm}^{-1}$  (w): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten  
 1291  $\text{cm}^{-1}$  (s)  
 1074  $\text{cm}^{-1}$  (m) 15  
 999  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 486 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 36140  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$   
 e)  $R_F$ -Wert: 0,59.

Benzaldehyd-MNBDhydrazon (II mit  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{C}_6\text{H}_5$ ): 20

- a)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm]: 4,21 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 7,49 (m) und 7,83 (m), 6H, Aryl-H und  $\text{H}_{\text{C}_5}$ , 8,07 (s, 1H, N=CH), 8,56 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{C}_6}$ ,  $J = 9,6$  Hz)  
 b) MS: 297 ( $\text{M}^+$ , 88%), 221 (18%), 220 ( $\text{M}^+ - \text{C}_6\text{H}_5$ , 13%), 192 (24%), 133 (17%), 117 (34%), 104 (49%), 103 (46%), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ , 100%) 25  
 c) IR: 1604  $\text{cm}^{-1}$  (w), 1572  $\text{cm}^{-1}$  (m), 1501  $\text{cm}^{-1}$  (m): C=C-Valenzschwingung des Aromaten  
 1531  $\text{cm}^{-1}$  (s): asymmetrische und symmetrische N=O-Valenzschwingung  
 1443  $\text{cm}^{-1}$  (m), 1422  $\text{cm}^{-1}$  (w): C-H-Deformationsschwingung  
 1367  $\text{cm}^{-1}$  (s): N=O-Valenzschwingung konjugiert mit dem Aromaten 30  
 1277  $\text{cm}^{-1}$  (s)  
 1074  $\text{cm}^{-1}$  (m) 35  
 998  $\text{cm}^{-1}$  (m)  
 d) UV ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):  $\lambda_{\text{max}}$ : 508 nm,  $\epsilon$  ( $\lambda_{\text{max}}$ ): 42990  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$   
 e)  $R_F$ -Wert: 0,64.

Durchbrüche der Aldehyde in die Kontrollschicht werden nicht beobachtet. Daher ist es möglich, die Sammelschicht quantitativ auszuwerten. Nach externer Kalibration mit den Kalibrationssubstanzen werden folgende Konzentrationen für die Aldehyde und Ketone ermittelt: Formaldehyd: 0,12 ppm (0,12  $\mu\text{g/L}$ ), Acetaldehyd: 0,8 ppm, Aceton: 14 ppm, Acrolein: 0,02 ppm, Octanal: <0,01 ppm, Glutardialdehyd: 0,015 ppm, Benzaldehyd: 0,07 ppm. 40

## Beispiel 2

### Bestimmung von Nitrit in einem Oberflächengewässer

Eine Reagenzlösung von I wird wie folgt hergestellt: 30 mg I werden in 8 mL Acetonitril und 2 mL halbkonzentrierter Schwefelsäure gelöst. 1 mL dieser Reagenzlösung wird zu 50 mL Wasserprobe pipettiert. Nach einer Reaktionszeit von 60 Minuten werden 20  $\mu\text{L}$  des Reaktionsgemisches in das HPLC-System injiziert. Die Trennung erfolgt auf einer Delta-bond AK-Säule (Firma Keystone) unter Verwendung eines binären Gradienten aus Acetonitril und Wasser. Die Detektion erfolgt fluoreszenzspektroskopisch bei einer Anregungswellenlänge von 470 nm und einer Emissionswellenlänge von 537 nm. Die externe Kalibration erfolgt mit einem Standard aus MNBDA, der wie folgt synthetisiert wird: 140 mg ( $6,7 \cdot 10^{-4}$  mol) MNBDH werden in 28 mL Ethanol und 4,7 mL konzentrierter Salzsäure gelöst. Anschließend werden unter Eiskühlung 65 mg Natriumnitrit ( $9,4 \cdot 10^{-4}$  mol) gelöst in 5 mL Wasser hinzugefügt. Nach halbstündigem Stehen wird die Reaktionslösung mit 47 mL Wasser versetzt, wobei sich die Lösung trübt, worauf man noch eine Stunde bei Zimmertemperatur stehenläßt. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute beträgt 50,9 mg (= 39%). 55

Unter Verwendung dieser Standardsubstanz wird eine Konzentration von 70 ppb (70  $\mu\text{g/L}$ ) Nitrit in der Wasserprobe bestimmt.

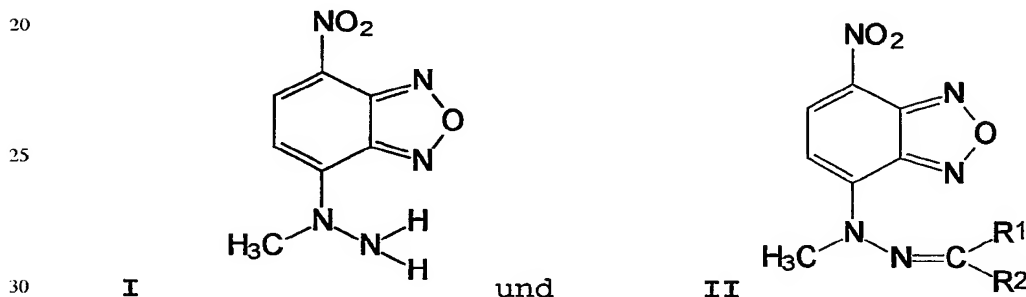
Alternativ findet die Bestimmung von Nitrit direkt-fluoreszenzspektroskopisch statt. Hierzu wird dieselbe Probe nach erfolgter Reaktionszeit auf einem Mikrotiterplatten-Fluoreszenzmeßgerät untersucht: 200  $\mu\text{L}$  der umgesetzten Probe werden auf eine Mikrotiterplatte pipettiert. Die Kalibration erfolgt über auf derselben Platte befindliche Standardlösungen des MNBDA bei der Anregungswellenlänge von 470 nm und der Emissionswellenlänge von 537 nm. Mittels dieses Verfahrens wird eine Konzentration von 65 ppb (65  $\mu\text{g/L}$ ) Nitrit in der Wasserprobe bestimmt. Die mittels beider Methoden bestimmten Werte stimmen im Rahmen der bei diesen Verfahren zu erwartenden Abweichungen gut überein. 60

## Simultane Bestimmung von Acetaldehyd und Stickstoffdioxid im Abgas eines dieselbetriebenen Kraftfahrzeugs

- 5 Ein Probenahmeröhrchen nach Beispiel 1 wird hergestellt. Zur Probenahme wird wiederum eine Probenahmepumpe nach Beispiel 1 eingesetzt. Durch das Probenahmeröhrchen wird der Abgasstrom des im Leerlauf laufenden Kraftfahrzeugs mit einer Flußrate von 0,2 l/min für einen Zeitraum von 2,5 Minuten gesaugt. Nach der Probenahme wird das Röhrchen von der Pumpe entfernt, Sammel- und Kontrollschicht werden getrennt zwei Stunden lang in einem Präparatgläschen mit jeweils 5 ml Acetonitril eluiert. Von dieser Lösung werden 10 µl unter den in Beispiel 1 beschriebenen Bedingungen flüssigchromatographisch getrennt. Die Detektion für Acetaldehyd erfolgt UV/vis-spektroskopisch bei der Wellenlänge von 488 nm. Stickstoffdioxid wird über einen in Reihe geschalteten Fluoreszenzdetektor bei der Anregungswellenlänge von 470 nm und der Emissionswellenlänge von 537 nm bestimmt. Durch Einsatz reiner Standards von MNBD und Acetaldehyd-MNBDhydrazon werden Konzentrationen von 1,3 ppm (1,3 µg/l.) Acetaldehyd und 22 ppm (22 µg/l.) Stickstoffdioxid bestimmt.

## Patentansprüche

## 1. Verbindungen der allgemeinen Formeln



mit R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> = H, Alkyl, Aryl.

2. Verwendung der Verbindung I als Reagenz zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen.
3. Verwendung der Verbindungen II als Kalibrationsstandards in der Bestimmung der den entsprechenden Hydrazonen zugrundeliegenden Aldehyden und Ketonen.
- 35 4. Verwendung der Verbindung I als Reagenz zur Bestimmung von Stickstoffdioxid.
5. Verwendung der Verbindung I als Reagenz zur Bestimmung von Nitrit.
6. Verfahren zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 2, gekennzeichnet dadurch, daß man eine flüssige oder gasförmige Probe mit der Verbindung I und gegebenenfalls einer Säure zusammenbringt und die Reaktion spektroskopisch oder elektrochemisch auswertet.
- 40 7. Verfahren zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 2 oder 6, gekennzeichnet dadurch, daß die Verbindung I und gegebenenfalls die Säure in Form einer Lösung oder einer imprägnierten Festphase vorliegen.
8. Verfahren zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 2 oder 6 bis 7, gekennzeichnet dadurch, daß die Edukte und Produkte der Reaktion der Verbindung I mit Aldehyden und Ketonen flüssigchromatographisch getrennt und mittels UV/vis-Spektroskopie, Massenspektrometrie oder Amperometrie detektiert werden.
- 45 9. Verfahren zur Bestimmung von Stickstoffdioxid nach mindestens einem der Ansprüche 1 oder 4, gekennzeichnet dadurch, daß man eine gasförmige Probe mit der Verbindung I und gegebenenfalls einer Säure in Kontakt bringt und die Reaktion spektroskopisch auswertet.
- 50 10. Verfahren zur Bestimmung von Stickstoffdioxid nach mindestens einem der Ansprüche 1, 4 oder 9, gekennzeichnet dadurch, daß man die Reaktion fluoreszenzspektrometrisch auswertet.
11. Verfahren zur Bestimmung von Stickstoffdioxid nach mindestens einem der Ansprüche 1, 4 oder 9, gekennzeichnet dadurch, daß Edukt und Reaktionsprodukt flüssigchromatographisch getrennt und mittels UV/vis-Spektroskopie oder Fluoreszenzspektroskopie detektiert werden.
- 55 12. Verfahren zur Bestimmung von Nitrit nach mindestens einem der Ansprüche 1 oder 5, gekennzeichnet dadurch, daß man eine flüssige oder gasförmige Probe mit der Verbindung I und gegebenenfalls einer Säure in Kontakt bringt und die Reaktion spektroskopisch auswertet.
13. Verfahren zur Bestimmung von Nitrit nach mindestens einem der Ansprüche 1, 5 oder 12, gekennzeichnet dadurch, daß man die Reaktion fluoreszenzspektrometrisch auswertet.
- 60 14. Verfahren zur Bestimmung von Nitrit nach mindestens einem der Ansprüche 1, 5 oder 12, gekennzeichnet dadurch, daß Edukt und Reaktionsprodukt flüssigchromatographisch getrennt und mittels UV/vis-Spektroskopie oder Fluoreszenzspektroskopie detektiert werden.
15. Verfahren zur simultanen Bestimmung von Aldehyden, Ketonen, Stickstoffdioxid oder Nitrit nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5, gekennzeichnet dadurch, daß man eine flüssige oder gasförmige Probe mit der Verbindung I und gegebenenfalls einer Säure in Kontakt bringt, die Edukte und die Reaktionsprodukte chromatographisch trennt und die Reaktion spektroskopisch oder elektrochemisch auswertet.
- 65